中華農業研究（Jour. Agri. Res. China）40(1)：94～101（1991）

蘆筍花葯培養之全雄育種
I. 品種及單株間花葯培養效率之研究[1]

賴本智[2]　許家言[3]　葉常青[3]　蔡新聲[4]

摘要：本研究之目的在以花葯培養進行蘆筍之品種改良過程中，檢討品種及單株間之花葯培養效率，不同分化培養基之效果，癒合組織之日齡與分化能力之關係及花葯來源植株染色體之倍數性，以爲育種之參考，其結果摘錄如下：

1. 花葯癒合組織自含有2 mg／l NAA, 1 mg／l BA及 6% sucrose 之 1／2 MS基本鹽類培養基（Na－Fe－EDTA全量）誘得後，先繼代培養於含有 1 mg／l NAA 及0.5 mg／l BA之 Murashige *et al.*(1972)基本鹽類培養基進行植株分化之誘導，二個月後未分化之癒合組織，再繼代培養於MS之基本鹽類培養基之處理方式，可獲得最佳之分化效果。

2. 品種及單株間之花葯培養效率差異極大，在 80 棵受測之蘆筍雄株中，以UC500 W－20單株之育種效率14.6%最高。造成品種及單株間差異之主要原因可能爲，各單株之遺傳組成相異所致。花葯來源植株根端細胞染色體之檢定發現，單倍體佔8.2%，雙倍體佔 60.6%，三倍體佔 5.3%，四倍體佔 24.3% 及混雜體佔 1.3%。

3. 花葯癒合組織約在花葯培養30～60天間形成，50日齡癒合組織之分化能力最強。

關鍵詞：蘆筍，花葯培養，全雄育種。

利用蘆筍花葯培養獲得的雄性單倍體，經染色體倍加後所得的超雄性雙倍體(YY)，若與雌性個體(XX)交配，則所得 F_1 種子可全爲雄性(XY)且一致的個體，這種新的育種方法，已被世界蘆筍先進國家所利用以育成新品種[4,6,7,8,9,11,15,17,18]。

有關蘆筍花葯培養的報告很多，如Dore[7]，Falavigna[8]，Hondelmann and Wilberg[11]，Inagaki *et al.*[12]，Pelletier et *al.*[15]，Tsay *et al.*[4,16,17]，及 Yakuma *et al.*[19] 等文獻，均曾對蘆筍花葯培養癒合組織形成及分化的培養基有詳細的敍述。就花葯癒合組織的誘導而言，一般均認爲適當濃度的NAA及BA配合MS基本鹽類培養基較佳[4,12,19]。唯這些癒合組織經移植到分化培養基後，所分化之植株太少，因而降低了各單株及品種間之花葯培養效率。爲了解單株間癒合組織形成的情形，及不同生長日齡之癒合組織對分化植物體的影響，本研究以過去本研究室所慣用之二種分化培養基(AR－2及MS)，進行誘導植株形成效果上之檢討，期能提高綠苗形成之百分率，而將本技術實際應用於蘆筍之全雄育種。

材料與方法

花葯培養所用的材料，係種植於台灣省農業試驗所蘆筍品種保存圃之80株雄株。將小胞子發育時

---

1. 台灣省農業試驗所　研究報告第 1555 號，本研究承農委會經費補助，文稿英文部份承本所農藝系劉大江博士斧正，特此申謝。
2. 3. 4. 分別爲本所農藝系前助理研究員(目前爲台大蘭園總經理)，助理及研究員。台灣省　台中縣　霧峰鄉。

期爲單核期，長度約2～3 mm之花苞，以10% Clorox（含0. 525%之次氯酸納）消毒10分鐘，再以無菌水清洗數次後，將花葯小心自花蕾中取出，接種於含有2 mg／l NAA（α-naphthaleneacetic acid），1 mg／l BA（6－benzylamino purine），6% sucrose 及將無機鹽類減半（Na－Fe－EDTA全量）之Murashige and Skoog (1962)[13]培養基上[4]（簡稱 AA—2），置於 27±1°C之恆溫黑暗下培養，進行癒合組織之誘導，並調查癒合組織形成的時間及數目，再將不同日齡之癒合組織（可見癒合組織之日起算，在原培養基生長之日數），繼代培養於含有 1 mg／l NAA，0.5 mg／l BA 及 2.5% sucrose之 Murashige *et al*.(1972)培養基(簡稱 AR－2)，或不添加任何植物生長調節劑之 Murashige and Skoog(1962) 基本鹽類培養基上[17]（簡稱 MS），於溫度 27±1°C，光照1,500lux，光期 16小時的環境下，進行綠芽分化的誘導，二個月後尚未分化的癒合組織再繼代培養於 MS 培養基上，加強器官之形成，再經二個月後調查植株誘導之情形。所有分化綠芽均取其莖頂培養於含有 0.3 mg／l NAA 及 0.1 mg／l kinetin之 Murashige *et al*.(1972)培養基上（簡稱 AM）繁殖[14]，健化處理後之植株，移植於裝有泥炭苔之水稻育苗箱上罩以塑膠布，每日噴水二次，以助植株成活。1～2 個月後成活之植株改種於裝有河砂之塑膠盆中，置於溫室內生長[16]。

誘得植株染色體的檢定，係以生育良好之植株，長約 0.5 cm 之肉質新根爲材料；將取得之根先以 0.002 M 8－hydroquinoline溶液處理6小時，再以3:1之酒精及冰醋酸混合液固定，隔夜後以70%酒精更換，並置於5°C冰箱中保存。觀察當日之根端，經水洗後先以 60°C 1N HCl 軟化水解8分鐘，經水洗後以 Fuelgen 染液染色2小時，再以醋酸洋紅壓潰法鏡檢。

結　　果

將田間選出80株優良蘆筍雄株進行花葯培養，所誘得20～30天日齡之癒合組織，移至AR－2分化培養基二個月後，再將未分化之癒合組織移至MS培養基二個月，以誘導植株形成，其結果如表1顯示，在花葯癒合組織誘導率超過 25%的19株雄株中，以UC 500 W－20的63%最高，UC 500 W－23之47.8%次之，其他17株形成花葯癒合組織之百分率約在25～36%之間。花葯癒合組織在 AR－2分化培養基之綠芽分化率，除 UC New Dwarf 5－6 高達15.2%外，其餘雄株都在10%以下，其中更有半數以上（11株）之分化率爲零，在AR－2培養基未分化之癒合組織，經再移植到 MS 培養基後，則大部份雄株花葯癒合組織之綠芽分化率均有顯著的改善（除UC New Dwarf 5－6外），未分化植株之雄株減爲三株（UC 157－12，UC New Dwarf 5－2 及UC New High 5－7）。就花葯培養效率（anther culture efficiency，即花葯癒合組織誘導率與綠芽分化率的乘積）而言，則以UC 500 W －20之14.6%最高，此乃因 UC 500 W－20 具有最高之癒合組織誘導率（63%）及綠芽分化率（9.3%＋13.9%＝23.2%），其餘雄株之花葯培養效率都在10%以下，其中 UC 157－12，UC New Dwarf 5－2及 UC New High 5－7爲零，無法做爲花葯培養誘導單倍體形成之材料。

表2之資料爲80棵雄株以品種爲主，經統計後之分化率及花葯培養效率。資料顯示品種間花葯癒合組織之誘導率差異很大，約在1.3%至 53.3%間，平均爲19.2%。花葯癒合組織在AR－2分化培養基之綠芽分化率，以UC 500 W 及 UC New Dwarf 5 二品種反應較佳，與表1 之結果極爲相符；未分化之癒合組織經再繼代培養於MS培養基後，則綠芽分化率亦如單株間之反應呈顯著的改善； MS培養基之平均綠芽分化率爲6.6%，比 AR－2 培養基平均爲1.9%高出三倍以上。各品種之花葯培養效率仍以UC 500 W 之7.1%最高，其餘都在0.2～2.9%之間。

表1. 蘆筍花葯培養單株間之花葯培養效率（癒合組織誘導率超過25%之單株）

Table 1. Plant－to plant variability in the anther culture efficiency of asparagus anther culture (Callus induction percentage over 25%)

Variety and plant No.	No. of anther cultured	% of anther forming callus (A)	Callus forming green plants in		Anther culture efficiency A X (B+C)
			AR-2* medium(B) －%－	MS** medium(C) －%－	
UC157－12	229	29.3	0.0	0.0	0.0
－13	819	29.7	0.0	4.3	1.3
UC309－17	1,430	29.9	4.0	8.0	3.6
－64	76	36.8	0.0	10.5	3.9
UC500－ 5	943	25.6	4.2	19.0	5.9
－12	306	34.3	6.7	12.1	6.4
UC711－ 3	178	26.4	0.0	9.1	2.4
－11	108	25.0	0.0	11.1	2.8
UC New 500－ 2	140	28.6	0.0	5.0	1.4
－ 6	96	35.4	3.7	4.2	2.8
－20	114	25.4	3.4	4.8	2.1
－27	106	34.0	0.0	14.7	5.0
UC500W－20	127	63.0	9.3	13.9	14.6
－23	226	47.8	0.0	6.4	3.1
UC New Dwarf 5-2	142	31.7	0.0	0.0	0.0
－6	225	36.4	15.2	5.1	7.4
－8	108	30.6	3.0	13.3	5.0
UC New High 5-7	205	32.2	0.0	0.0	0.0
Mary Washington-27	154	37.0	0.0	2.7	1.0

* AR－2 medium:Murashige *et al.* (1972) basic salts with 1 mg/l NAA , 0.5 mg/l BA and 2.5 % sucrose.
** MS medium : Murashige and Skoog (1962) basic salts with 3% sucrose.

表2. 蘆筍不同品種間花葯培養之花葯培養效率。

Table 2. The anther culture efficiency of asparagus anther culture among varieties

Varieties	No. of plant used	No. of anther cultured	% of anther forming callus	Callus forming green plants in		Anther culture efficiency A X (B+C)
				AR-2* medium(B) －%－	MS** medium(C) －%－	
UC157	8	3,191	22.8	0.4	3.3	0.8
UC309	6	2,269	27.5	2.8	7.1	2.7
UC500	4	3,363	18.7	3.3	12.4	2.9
UC711	11	2,522	11.5	1.6	5.2	0.8
UC800	1	185	11.9	0.0	4.6	0.5
UC New 500	9	1,641	16.8	0.8	6.7	1.3
UC500W	2	353	53.3	4.0	9.4	7.1
UC New Dwarf 5	6	794	1.3	6.8	6.0	0.2
UC New High 5	6	900	17.1	2.1	10.9	2.2
500009	15	2,443	21.6	0.2	4.0	0.9
Mary Washington	12	2,494	16.8	1.0	5.5	1.1
Total and Average	80	20,155	19.2	1.9	6.6	1.6

*, ** : Same as Table 1.

蘆筍各品種間花葯癒合組織分化所得植株染色體之分佈，由表3 可知，以二倍體所佔比率60.6%最高，四倍體佔24.3%次之，單倍體佔 8.2%又次之，三倍體及混雜體（mixaploid）所佔比率較少。這些結果顯示花葯培養過程中，染色體之變化頗大，有核融合（nuclear fusion）或核內有絲分裂（ endomitosis）等現象發生。

表3. 蘆筍花葯來源癒合組織分化所得植株之染色體分佈。

Table 3. The chromosome distribution of anther－derived plants of asparagus

Varieties	Number of plants					Total
	Haploid	Diploid	Triploid	Tetraploid	Mixaploid	
UC157	3	12	1	4	0	20
UC309	14	21	5	14	4	58
UC500	22	212	18	84	0	336
UC711	0	8	0	3	0	11
UC New 500	0	1	1	3	0	5
UC500W	0	8	0	0	0	8
UC New Dwarf 5	0	6	0	2	0	8
UC5000W	0	6	0	0	1	7
UC New High 5	0	6	0	1	1	8
Mary Washington	0	4	0	4	0	8
Total	39	284	25	115	6	469
Percentage	8.2	60.6	5.3	24.3	1.3	

多次花葯癒合組織誘導分化之試驗結果顯示，癒合組織之日齡和綠芽分化率間有密切的關係，因此進行進一步之試驗，即將UC 500－5雄株所誘導不同日齡之花葯癒合組織，分如表4 所示之 I 、II 二種方式進行綠芽分化之誘導。 I 法：花葯癒合組織先培養於AR－2分化培養基，二個月後未分化之癒合組織再繼代培養於MS培養基。II 法：第一次分化處理之AR－2培養基以MS代替，其他和 I 法相同。結果列如表4 ，以50日齡癒合組織之綠芽分化力最強，在 I 、II 法之分化處理分別有59.0%及29.4%形成綠芽，因此此時期之花葯培養效率也最高， I 、II 法處理分別爲28.6%及14.3%；隨著癒合組織日齡之減少或增加，分化綠芽之能力呈降低之趨勢。兩種方法之分化誘導處理， I 法優於 II 法。以 I 法誘導分化，40日齡以前之結果和表1 有相同之趨勢，即第二分化培養（ MS ）比第一分化培養基（ AR－2 ）效果好，50日齡以後至80日齡之癒合組織，則MS及AR－2二種分化培養基呈大約相等之效力。若以 II 法誘導分化，則40日齡以前之癒合組織，不管是以第一或第二分化培養基處理（均爲 MS ），其分化綠芽之能力均極差；50～80日齡之癒合組織則第一次MS培養基之分化效果大幅度提高，但第二次 MS 之分化效果仍無起色；換言之，若第一次不使用AR－2分化培養基誘導分化，則第二次之 MS 分化效果無法顯現，而形成較久之癒合組織（50～80日齡）比40日齡以前者，較易誘導綠芽之形成。

表4. 蘆筍UC500－5單株不同日齡之花藥癒合組織培養於不同分化培養基之花藥培養效率。

Table 4. Influence of callus age on the differentiation ability in asparagus anther culture (UC500－5)

Days after callus emergence	Differen－tiation medium used*	No. of callus cultured	% of callus forming green plants in			Anther culture efficiency A**X(B+C)
			1st medium (B)	2nd medium (C)	Total	
10	I	268	4.5	10.7	15.2	7.4
	II	179	1.1	0.8	1.9	0.9
20	I	309	9.7	20.9	31.6	14.8
	II	250	4.0	1.6	5.6	2.7
30	I	282	9.9	21.1	31.0	15.0
	II	275	2.9	0.4	3.3	1.6
40	I	255	12.2	24.6	36.8	17.8
	II	276	5.1	0.4	5.5	2.7
50	I	23	30.4	28.6	59.0	28.6
	II	26	23.1	6.3	29.4	14.4
60	I	·39	15.4	22.9	38.3	18.6
	II	39	20.5	0.0	20.5	9.9
70	I	66	19.7	15.7	35.4	17.2
	II	52	13.5	0.0	13.5	6.5
80	I	13	23.1	20.0	43.1	20.9
	II	25	12.0	4.6	16.6	8.0
90－100	I	5	0.0	40.0	40.0	19.4
	II	5	0.0	0.0	0.0	0.0
Total and	I	1,260	13.9	22.7	36.6	17.7
average	II	1,127	10.5	1.6	12.1	5.2

* I:Anther callus was firstly transferred into AR－2 medium for organ induction, two months later, those non－regenerative callus were then transferred into MS medium for another two months.
II:Anther callus was firstly transferred into MS medium for organ induction, two months later, those non－regenerative callus were then transferred into new MS medium for another two months.
** A:Percentage of callus induction = 48.5%.

討　論

許多報告指出花藥癒合組織的形成，因品種、品系、單株及雜交組合之不同而有很大的差異[2,3,12]。Yakuma *et al.* 培養一個品種的蘆筍花藥，獲得79.3%的癒合組織誘導率[21]。Inagaki *et al.* 發現所培養的三蘆筍品種，花藥癒合組織誘導率分別爲 72、86及 90%[14]。而 Falavigna 培養 Early of Argen teuil品種之蘆筍花葯，僅得 1.5%之癒合組織誘導率[6]。本試驗表1 、2 之結果亦顯示，蘆筍花葯癒合組織之誘導率，確因單株及品種之不同而有極大之差異。

蘆筍花葯癒合組織分化綠苗的能力，許多學者均曾報導因單株及品種之不同而異[8,12,16,17]；Falavigna即曾報導蘆筍花葯癒合組織之分化率可高達46.6%[8]；本研究表1及表2各單株及品種間花葯癒合組織之分化率及育種效率，亦顯示明顯的差異性，此乃因供試的八十株雄株蘆筍品種，均係由美國引進，由於親本不純及雜交後F_1呈現不同的表現型，所以即使相同品種內之各單株，亦顯現出基因型上之差異，因此品種或單株間之癒合組織誘導率及植株分化率會有差異。

由表3 可知，各品種間花葯培養分化之植株染色體分佈，以二倍體60.6%最多，四倍體24.3%次之，單倍體8.2%又次之，三倍體及混雜體較少，此與Falavigna 發現蘆筍花葯培養分化植株染色體之分佈，以二倍體64%最高，四倍體25%次之，三倍體8%又次之，單倍體3%最少之結果頗爲一致[8]。

大部份植物花葯培養所得之植物體，會產生染色體倍數性之變異，這點與菸草花葯培養經由胚狀

體形成幾乎全爲單倍體的結果有很大的不同[2]。蘆筍花葯癒合組織先經含有NAA及BA培養基的誘導，再經AR－2分化培養基之刺激後，培養於MS培養基誘導植株產生，由於NAA及BA等植物生長調節劑之刺激，致使所得植株染色體產生極大的變異是極其自然的事；單倍體細胞可因核融合（nuclear fusion） 或核內有絲分裂（endomitosis）倍加爲多倍體，在水稻極爲常見[1,3,5]，這二種倍加機制，也可能是蘆筍花葯癒合組織形成各種倍數體植株之主要原因。

誘導蘆筍花葯癒合組織形成及分化的培養基，許多學者看法不同，主要在植物生長調節劑的種類及濃度的變化。通常NAA及BA兩種植物生長調節劑，較常被使用於蘆筍花葯培養[4,12,16,17,19]，其濃度一般爲1～ 5 mg／l的NAA配合 0.1 ～ 1 mg／l 的BA較易誘導癒合組織的形成。若將癒合組織繼代培養於含有NAA及BA各爲1 mg／l 的培養基，則癒合組織生長更佳。但若將癒合組織繼代培養於0.1～0.5 mg／l的NAA及1 mg／l BA的培養基，則可分化較多之植株。蔡等報導以6% sucrose配合2 mg／l NAA及1 mg／l BA之MS基本鹽類培養基，對蘆筍花葯癒合組織之誘導最恰當[4,17]；而誘導分化之培養基則以含1 mg／l NAA及0.5 mg／l BA之植物生長調節劑最佳[17]。

不同日齡之花葯癒合組織培養於二種分化培養基後，顯示50日齡之癒合組織所具之分化能力最高，太幼嫩或過老之癒合組織分化力均降低。蔡和林發現肉眼可見之日起10天之水稻花葯癒合組織分化率最高，且形成之綠苗數最多，太老或經繼代培養後之癒合組織，不但分化能力降低，而且形成較多之白苗[1]；本研究發現蘆筍花葯癒合組織生長緩慢，且較不易褐化，唯若將太幼嫩（10日左右）之癒合組織移至分化培養基，極易因生長不良而死亡，因而降低綠芽之分化率。Yakuma et al. 發現蘆筍之花葯癒合組織培養於有 NAA 及 BA 之培養基上，23 週後仍具極高之綠芽分化率[19]，這種癒合組織不易老化之特性，對誘導植株之分化極爲有利；本研究亦發現蘆筍之花葯癒合組織，適合長時間培養於含有 NAA及 BA 之培養基而不易褐化死亡；而且此花葯癒合組織之懸浮細胞，雖經二十次以上之繼代培養，仍不失其分化器官之能力（蔡，資料未發表）。

此外，蘆筍花葯癒合組織先繼代培養於含有適量 NAA 及 BA 之 AR－2 培養基，再繼代培養於MS培養基之分化能力，較經二次 MS 培養基之分化處理，其綠芽形成率高出甚多，如50日齡之花葯癒合組織，其綠芽形成率分別爲59.0%（AR－2,MS處理）及29.4%（MS,MS處理）；此種結果表示蘆筍花葯癒合組織之分化，早期需有植物生長調節劑之刺激誘導（trigger effect），才能誘導癒合組織形成器官或胚狀體，而這些器官若能在含有稍低或甚至沒有植物生長調節劑之培養基（MS）中生長，則能誘導較多之植物體形成。40日齡以前之MS－MS處理（II法），植物體形成偏低，約在1.1%～5.1%間，而 50～80日齡之老癒合組織，則情形顯著改善（12～23.1%間），可能的原因爲所誘導之花葯癒合組織，可獲得癒合組織誘導培養基中所含植物生長調節劑之刺激所致。

綜合以上之結果，得知選擇性狀優良且育種效率較高之單株，採其單核期花葯接種於含有2 mg／l NAA ，1 mg／l BA及6% sucrose之 MS 培養基[4]，在黑暗中培養，將50日齡之癒合組織繼代培養於1 mg／l NAA，0.5 mg／l BA及2.5% sucrose之Murashige *et al*.(1972) 培養基[17]，照光下培養二個月後，再繼代培養於不加植物生長調節劑之 MS 培養基上二個月，可得最佳之花葯培養效率。此種花葯培養誘導植株形成過程的建立，將有助於今後實際從事蘆筍育種工作之加速。

引用文獻

1. 蔡秀錦、林明華。1977。水稻花葯培養以育成植株之研究。中華農業研究 26(2):100－112。
2. 蔡新聲。1980。花葯培養單倍體植物之形成及應用。科學農業 28:379－396。
3. 蔡新聲、鄧耀宗、賴本智、紀迺淳。1981。秈粳稻雜種的花葯培養。中華農業研究 30(4):133－139。
4. 蔡新聲、賴本智、紀迺淳。1980 。蘆筍花葯培養單倍植物體形成之研究。中華農業研究 29(4):309－319。
5. Chen, C. C. and C. M. Chen. 1980. Change in chromosome number in microspore callus of rice during

successive subculture. Can. J. Genet. Cytol. 22:697－614.

6. Corriols, L., C. Dore and C. Rameau. 1989.: Commercial release in France of Andrens. The first made F_1 hybrid. Proc. 7th Intl. Asparagus Symp. P. 26, (Abstracts) Ferrara, Italy.

7. Dore, M. C. 1973. Androgenese in vitro par culture d'anttheres d'*Asparagus officinalis.* I. Etat actuel des recherches. In 4'eme Reunion sur la Selection de l'Asperge (L. Thevenin, ed.). pp. 173－181, Eucarpia Sect. Horticole, Versailles.

8. Falavigna, A. 1979. Pure lines of *Asparagus officinalis* L. obtained by in vitro culture in Italy. In Proc. 5th Intl. Asparaugs Symposium (G. Reuther, ed.). pp. 91－99, Eucarpia Section Vegetables, Geisenheim Forschungsanstalt, Federal Republic of Germany.

9. Falavigna, A., M. G. Tacconi and P. E. Casali. 1985. Asparagus breeding through anther vitro culture: eight years of activity in Italy. Proc. 6th Intl. Asparagus Symp. pp. 31－40, Univ. of Guelph, Guelph, Canada.

10. Genovesi, A. D. and C. W. Magill. 1982. Embryogenesis in callus derived from rice microspores. Plant Cell Reports 1:257－260.

11. Hondelmann, W. and B. Wilberg. 1973. Breeding all male varieties of asparagus by utilization of anther and tissue culture. Z. Pflanzenzuctg. 69:19－24.

12. Inagaki, N., T. Harada and T. Yakuma. 1980. Studies on the anther culture of horticultural crops I. Callus formation from the anthers of asparagus. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 49(1):71－78.

13. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio－assays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473－497.

14. Murashige, T., M. N. Shabed, P. M. Hasegawa, F. H. Takatori and J. B. Jones.1972. Propagation of asparagus through shoot apex culture. I. Nutrient medium for formation of plantlets. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97(2):158－161.

15. Pelletier, C., C. Raquin and G. Simon. 1972. La culture in vitro d'anthere d'asperge (*Asparagus officinalis)*. C. R. Acad. Sci. 274D:848－851.

16. Tsay, H. S., P. C. Lai and L. J. Chen. 1982. Breeding for all－male plants through tissue culture in asparagus. Proc. Plant Breeding Symp. under the ROC regional society of SABRAO and Agricultural Association of China, pp. 201－208.

17. Tsay, H. S., P. C. Lai, L. J. Chen and N. C. Chi. 1981. The development of haploid plants of *Asparagus officialis* L. through anther culture. Proc. 4th Intl. Symp. SABRAO. pp. 313－325, Kuala Lumpus, Malaysia, 4－8, May 1981.

18. Uragami, A. and M. Yoshikawa. 1985. The breeding process of the all male clonal hybrid. Proc. 6th Intl. Asparagus Symp. p. 378, Univ. of Guelph, Guelph. Canada.

19. Yakuma, T., T. Harada, N. Inagaki and Y Shiga. 1972. Studies on the anther culture of horticultural crops. I. Callus and organ formation in anther culture of asparagus. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 41(3):272－280.

Breeding for All-Male Plants through Anther Culture in Asparagus I. The Anther Culture Efficiency among Different Varieties and Plants[1]

P. C. Lai[2], J. Y. Hsu[3], C. C. Yeh[3] and H. S. Tsay[4]

summary

The purpose of this experiment was to obtain homozygous male and female asparagus plants through the techniques of anther culture. Special efforts were made A) to clarify the anther culture efficiency (number of green plants produced per 100 cultured anthers) of the individual plants, the effects of the different differentiation media, the callus of different age on plant regeneration, and the chromosome distribution of anther-derived plants. The results are summarized as follows:

1. Anther culture efficiency varied among individual plants as well as different varieties and it was highest (14.6%) for UC500W-20 among the 80 plants tested. This variation was probably due to genetic diversity. Cytological study of root tips of the anther-derived plants revealed marked variation in chomosome number including haploid (8.2%), diploid (60.6%), triploid (5.3%), tetraploid (24.3%) and mixoploid (1.3%).

2. The organ regeneration process of anther-derived callus was well-established as follows: Callus induced from a medium containing 1/2 strength (except Na-Fe-EDTA) of Murashige and Skoog (MS) (1962) salts supplemented with 2 mg/l NAA, 1 mg/l BA and 6% sucrose were firstly transferred to differentiation medium composed of Murashige *et al.* (1972) medium with 1 mg/l NAA and 0.5 mg/l BA. Two months later, non-regenerative callus were then transferred to the MS basal medium supplemented with only 3% sucrose.

3. The induction of callus mostly occurred at 30 to 60 days after the anthers were cultured. The highest differentiation ability could be obtained from the callus of 50 day age.

Key Words : Asparagus, Anther culture, All-male breeding.

---

1. Contribution No. 1555 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported by a grant from Council of Agriculture, Republic of China.
2. 3.4. Former Agronomist (The President of Taida Orchid Nursery, now), Research Assistants, and Senior Agronomist, respectively, Department of Agronomy, TARI,Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 413, ROC.